

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Veronika Krčmářová

Morfologická a funkční variabilita sekreторických žláz cercárií
vybraných skupin motolic

Morphological and functional variability of secretory glands in
cercariae of chosen trematode groups

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Jana Bulantová, Ph.D.

Praha, 2014

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat své školitelce Janě Bulantové za její cenné rady a trpělivost při psaní mé bakalářské práce a dále pak celé své rodině a přátelům za podporu při studiu.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 2014

Podpis

Veronika Krčmářová

ABSTRAKT

Motolice se vyznačují složitými vývojovými cykly, ve kterých figuruje kromě definitivních hostitelů i různý počet mezihostitelů. Při přenosu infekce z prvního mezihostitele na hostitele následujícího hraje klíčovou roli larvální stadium zvané cercárie. Morfologie a další osud těchto larev se po dokončení jejich vývoje v prvním mezihostiteli liší v závislosti na tom, jakou cestou infikují dalšího hostitele. Některé cercárie po uvolnění z prvního mezihostitele aktivně penetrují přímo přes povrch těla definitivních hostitelů, jiné encystují ve vnějším prostředí, kde v podobě metacerkárií na pozření definitivním hostitelem čekají. Nebo jsou oba výše zmíněné způsoby kombinovány a cercárie encystují do podoby metacerkárií infekčních pro definitivního hostitele uvnitř druhého mezihostitele poté, co do něj aktivně proniknou. Výjimečně cercárie neopouštějí ani sporocystu, ve které se vyvíjejí uvnitř prvního mezihostitele, následně zde i encystují a dál se vyvíjí až po pozření definitivním hostitelem.

Za účelem úspěšné přímé nákazy dalších hostitelů, přežití nepříznivých podmínek ve vnějším prostředí a přeměny na následující stádia se u cercárií vyvinuly mimo ostatních adaptací i různé typy sekreторických žláz. Tyto žlázy se u cercárií s ohledem na různé životní strategie motolic liší zejména svou morfologií a funkcí. Porovnání těchto odlišností bude předmětem předkládané bakalářské práce.

Klíčová slova: cercárie, penetrace, metacercárie, encystace, sekrece, žlázová buňka, subtegumentální buňka.

ABSTRACT

Trematodes are characterized by their complex life cycles that include definitive hosts and variable number of intermediate hosts. Transfer of the parasite from the first intermediate host to the other is usually realized by larval stage called cercaria. After finishing of their development within the first intermediate host, morphology and fate of these larval stages vary according to the way of infection of the next host. Some cercariae actively penetrate directly to their definitive hosts through their body surface, other encystate in the outer environment where they wait in a form of metacercariae to be ingested by definitive host. Both of these ways can be combined and cercariae encystate inside second intermediate host after they actively penetrate them. Exceptionally, cercariae do not leave the sporocyst in which they were developing inside the first intermediate host. They encyst there waiting for ingestion by the definitive host.

Various types of secretory glands have been developed in cercariae for successful direct infection of next hosts, survival of parasite in adverse conditions of outer environment or for transformation of one larval stage to subsequent one. Variability in morphology and function of these secretory glands in cercariae is closely connected with differences in life strategies of various trematode groups. Comparison of this variability will be presented in my bachelor thesis.

Key words: cercaria, penetration, metacercaria, encystation, secretion, gland cell, subtegumental cell.

OBSAH

1	ÚVOD	1
1.1	CÍLE PRÁCE.....	4
2	SEKRETORICKÉ ŽLÁZY MOTOLIC	5
2.1	TYPY SEKRETORICKÝCH ŽLÁZ CERKÁRIÍ	5
2.1.1	Rozdělení žláz podle typu vyústění.....	5
2.1.2	Rozdělení žláz podle typu sekrece	6
2.1.3	Rozdělení žláz podle funkce v těle cercárie	6
3	SROVNÁNÍ ŽLÁZ U JEDNOTLIVÝCH SKUPIN CERKÁRIÍ.....	8
3.1	CERKÁRIE AKTIVNĚ PRONIKAJÍCÍ DO DEFINITIVNÍHO HOSTITELE	8
3.1.1	Sekretorické žlázy cercárií motolic čeledi Schistosomatidae	8
3.1.1.1	<i>Penetrační žlázy</i>	8
3.1.1.2	<i>Subtegumentální buňky</i>	11
3.2	CERKÁRIE TVOŘÍCÍ METACERKÁRII V HOSTITELI	13
3.2.1	Cerkárie tvořící encystovanou metacerkárii (čeleď Echinostomatidae)	14
3.2.1.1	<i>Sekretorické žlázy cercárií čeledi Echinostomatidae</i>	14
3.2.2	Cerkárie tvořící volnou metacerkárii (čeleď Diplostomatidae)	17
3.2.2.1	<i>Sekretorické žlázy cercárií motolic čeledi Diplostomatidae</i>	17
3.3	CERKÁRIE ENCYSTUJÍCÍ VE VNĚJŠÍM PROSTŘEDÍ.....	19
3.3.1	Sekretorické žlázy cercárií čeledi Fasciolidae a Notocotylidae	19
3.4	CERKÁRIE NEOPOUŠTĚJÍCÍ REDII/SPOROCYSTU – TVOŘÍCÍ CERKARIEUM.....	23
3.4.1	Sekretorické žlázy cercárií čeledi Leucochlorididae	23
4	DISKUZE A ZÁVĚR	24
5	POUŽITÁ LITERATURA	26

1 ÚVOD

Motolice (Trematoda), patří spolu s ploštěnkami (Turbellaria), tasemnicemi (Cestoda) a žábrohlisty (Monogenea) mezi ploštěnce (Platyhelminthes). V průběhu ontogenetického vývoje vzniká u motolic syncytiální buněčný povrch bez cilií nazývaný tegument nebo neodermis. Díky tomuto charakteristickému znaku jsou Trematoda řazena mezi Neodermata (spolu s třídami Cestoda a Monogenea). V rámci třídy Trematoda rozlišujeme podtřídu Aspidogastrea, kterou se předkládaná práce dále nezabývá, a podtřídu Digenea.

Bakalářská práce se bude dále věnovat pouze digenetickým motolicím. Tyto motolice jsou paraziti se složitými vývojovými cykly, zahrnujícími více než jednoho hostitele. Dospělé motolice parazitují v různých orgánech obratlovců – nejčastěji v gastrointestinální soustavě, plicích, krevním řečišti, nervové soustavě, urogenitální soustavě atd. a jsou původci mnoha závažných onemocnění zvířat i lidí (např. fasciolóza, schistosomóza atd.). Než se však motolice dostanou do definitivního hostitele, jejich vývoj prochází přes larvální stadia. Ta se vyvíjejí v meziphostitelích.

- Prvními meziphostiteli bývají vodní (případně suchozemští) plži (výjimečně také mlži či mnohoštětinatci).
- Pokud má motolice více než jednoho meziphostitele, těmi následujícími bývají bezobratlí živočichové (např. hmyz, plži atd.) nebo obratlovci (nejčastěji ryby či obojživelníci).
- V některých případech mohou vývojová stadia infikovat i hostitele, na které nejsou adaptována a nemohou se v nich rozmnožovat ani dále vyvíjet, nicméně mohou stále sloužit jako zdroj infekce pro definitivního hostitele. Takoví hostitelé se nazývají parateničtí nebo transportní.

Motolice během svého ontogenetického vývoje střídají pohlavní a nepohlavní rozmnožování. Dospělé motolice v definitivním hostiteli kopulují a produkují vajíčka, ve kterých se vyvíjejí larvy – miracidia. Ta se z vajíček obvykle uvolňují do vodního prostředí, kde aktivně vyhledávají prvního meziphostitele. Do něj během infekce pronikají tělními otvory, nebo penetrují přes povrch těla.

U některých druhů motolic miracidia pasivně čekají ve vajíčku na pozření mezihostitelem.

V plži se z miracidia vyvíjí mateřská sporocysta, ve které dochází k nepohlavnímu množení a vývoji další generace larválních stadií – dceřiných sporocyst, případně redií. Výjimečně může být ve vajíčku místo miracidia vytvořena již přímo mateřská sporocysta, která se uvolňuje až po pozření mezihostitelem, např. motolice *Notocotylus attenuatus* (Murrills a kol. 1985). Sporocysty a redie mohou v mezihostiteli tvořit více generací. V poslední generaci sporocyst nebo redií se vyvíjejí cercárie, které tělo měkkýše obvykle opouštějí za účelem infikování následujícího hostitele.

Cercárie infikují dalšího hostitele různým způsobem (**obr. 1**). Mohou do něj aktivně penetrovat přes povrch těla či přirozenými tělesnými otvory, např. *Trichobilharzia regenti* (Horák a kol. 1998a). Nebo encystují ve vnějším prostředí do podoby metacercárie (někdy označovaných jako adoleskárie) a následující hostitel se infikuje pozřením vegetace s metacercárií, např. motolice druhu *Fascioloides magna* (Swales 1935). Některé cercárie strategie kombinují; pronikají do druhého mezihostitele a až v jeho tkáních tvoří metacercárii. Pozřením metacercárie spolu s mezihostitelem se nakazí následující, obvykle již definitivní hostitel. Infikovat se tedy může predátor po pozření kořisti, např. motolice čeledi Echinostomatidae (Graczyk & Fried 1998) ale i pasoucí se hostitel, který pozře mezihostitele (hmyz) spolu s vegetací, např. druh *Dicrocoelium dendriticum* (Tarry 1969). Výjimečně jsou zdrojem nákazy definitivního hostitele cercárie neopouštějící mezihostitele ani sporocystu, ve které encystují; případ cercariea (Pojmańska 1969).

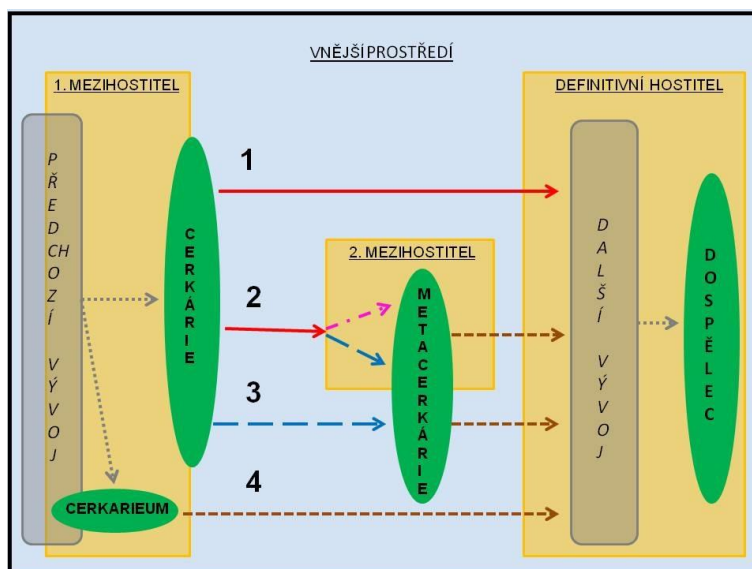
Po nákaze definitivního hostitele dochází k transformaci cercárie či k excystaci metacercárie a vyvíjí se juvenilní stadium, které putuje do místa definitivní lokalizace, kde dospívá.

Přizpůsobení cercárií k různým životním strategiím

V závislosti na typu vývojového cyklu motolice se liší i způsob, jakým cercárie pronikají do dalšího hostitele. Adaptace ke konkrétním životním strategiím se projevují odlišnostmi v základní stavbě těla cercárií (**obr. 2**), např. přítomností přísavky k uchycení na hostiteli, styletu ke snazšímu průniku do něj nebo různým typem ocásku podle potřeby a způsobu aktivního pohybu. Důležitou součástí

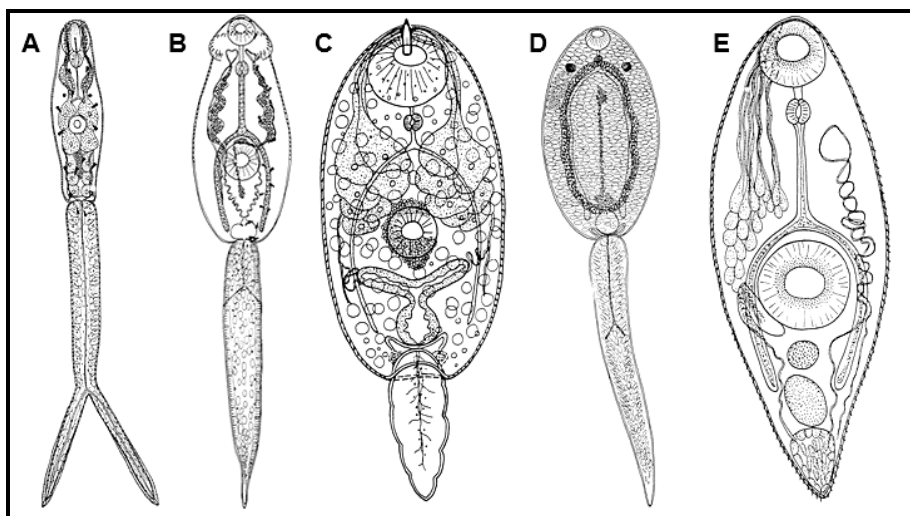
jejich adaptace je existence různých typů sekreторických žláz umožňujících nákazu hostitele, zajišťujících ochranu před okolními vlivy a umožňujících další vývoj v následujícím hostiteli.

Obr. 1 – Životní strategie cercárií: 1 – cercárie aktivně pronikající do definitivního hostitele; 2 – cercárie tvořící metacerkárii v mezhohostiteli; 3 – cercárie tvořící metacerkárii ve vnějším prostředí; 4 – cercárie tvořící cercarieum; ■ – vnější prostředí; ■ – hostitel; ● – vývojové stadium; ■ – vývoj předchozích či dalších stadií; ➔ – aktivní průnik; ➡ – encystované stadium; ➤ – neencystované stadium; ➞ – alimentární cesta; ➠ – předchozí či další vývoj.



Obr. 2 – Vybrané morfologické typy cercárií (Našincová 1992, upraveno):

A – furkocerkárie (rod *Trichobilharzia*); **B** – echinostomní cercárie (rod *Echinostoma*); **C** – xifidiocerkárie (rod *Plagiorchis*); **D** – monostomní cercárie (rod *Notocotylus*); **E** – cercarieum (rod *Leucochloridium*).



1.1 Cíle práce

Cílem této bakalářské práce je na základě dostupné literatury porovnat cercárie motolic, rozdělené podle typu životního cyklu do čtyř kategorií:

1. cercárie aktivně pronikající do definitivního hostitele
2. cercárie tvořící metacercárii v hostiteli
3. cercárie encystující ve vnějším prostředí
4. cercárie neopouštějící sporocystu – tvořící cercarieum

U cercárií vybraných druhů motolic pak budou z hlediska funkční a morfologické variability sledovány základní typy sekretorických žláz, kterými jsou:

- penetrační žlázy určené k průniku do hostitele
- únikové žlázy napomáhající uvolnění z mezihostitele
- cystogenní žlázy sloužící k tvorbě metacercárie
- subtegumentální buňky využívané při tvorbě a modifikaci tegumentu

2 SEKRETORICKÉ ŽLÁZY MOTOLIC

Sekrece je nedílnou součástí adaptace motolic na okolní podmínky a interakce s hostiteli během celého jejich vývojového cyklu. Miracidia, podobně jako cercárie, využívají různé typy sekrece k průniku do hostitele nebo k ochraně před nepříznivými vlivy okolního prostředí (Wilson 1971). Stejně tak juvenilní stadia a dospělci využívají sekreční produkty k migraci tkáněmi (Crabtree & Wilson 1985), ovlivňování imunitní odpovědi hostitele (Harrop & Wilson 1993) nebo jeho chování (Thompson & Kavaliers 1994).

2.1 Typy sekreторických žláz cercárií

Různé typy sekreторických žláz cercárii přímo umožňují infekci dalšího hostitele, vytvářejí kolem cercárie obaly, které ji chrání ve stadiu metacercárie před nepříznivými vlivy a hrají významnou roli i při přestavbě a opravách tegumentu po průniku do hostitele a při transformaci na následující stadium.

Sekreторické žlázy můžeme dělit do několika kategorií podle toho, jakým způsobem a kam je obsah vylučován, k jakým změnám v integritě buňky při jejím vyprazdňování dochází nebo podle funkce, jakou v daném organismu žláza plní.

2.1.1 Rozdělení žláz podle typu vyústění

Základní rozlišení žláz podle lokalizace jejich obsahu po uvolnění z buňky (obr. 3):

- Žlázy sekretující do tegumentu cercárie – obsah buněk je primárně vylučován přes cytoplasmatický spoj do tegumentu, ze kterého se posléze může dostávat až na jeho povrch. Do této skupiny patří subtegumentální buňky a některé typy cystogenních žláz, které tvoří vnitřní obaly metacercárie.
- Žlázy sekretující vně těla cercárie – obsah buněk je přes cytoplasmatický výběžek vylučován skrz tegument přímo do vnějšího prostředí cercárie. To jsou například penetrační žlázy a cystogenní žlázy, které tvoří vnější obaly metacercárie.

2.1.2 Rozdělení žláz podle typu sekrece

Rozlišení typů sekretorických žláz podle způsobu, jakým je obsah z buňky vylučován.

- Ekrinní (merokrinní) – k sekreci produktu dochází bez ztráty cytoplasmy žlázové buňky.
- Apokrinní – během sekrece dochází k částečné ztrátě cytoplasmy žlázové buňky.
- Holokrinní – sekrece je doprovázena masivní ztrátou cytoplasmy a buňka degeneruje.
- Modifikace výše zmíněných typů – např. diakrinní (Smyth & Halton 1983). U těchto typů se nepodařilo dohledat charakteristiku, která by je dostatečně odlišila od předchozích typů.

2.1.3 Rozdělení žláz podle funkce v těle cercárie.

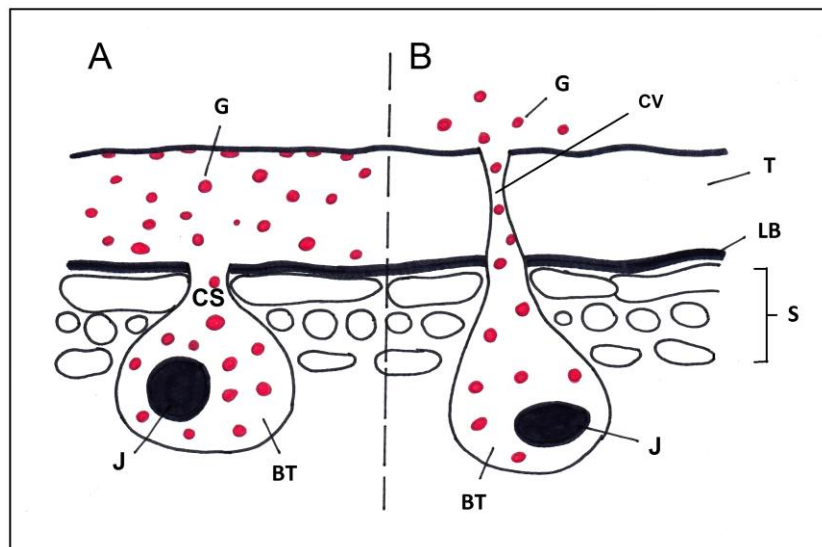
- Penetrační žlázy
Penetrační žlázy mají cercárie, které do svého hostitele pronikají skrz jeho tělní povrch. Žlázy ústí na povrch obvykle v hlavové části cercárie (Dorsey & Stirewalt 1971, Žďárská 1989). Sekrety žláz napomáhají cercárii k přichycení na těle hostitele a k narušení jeho tkání během penetrace (Stirewalt & Kruidenier 1961).
- Únikové žlázy
Produkty těchto žláz jsou cercáriemi využívány k opuštění meziphostitelského plže. U volně plovoucích cercárií se již nevyskytují. Podobně jako penetrační žlázy, i únikové žlázy ústí na povrch těla cercárie na jejím předním konci. (Dorsey 1974)
- Cystogenní žlázy
Cercárie encystující ve vnějším prostředí nebo v meziphostiteli mají pod vrstvou svaloviny umístěné cystogenní žlázy. V dostupné literatuře jsou rozlišovány různé typy cystogenních žláz u různých druhů cercárií; podle lokalizace v těle cercárie, podle jejich obsahu, podle pořadí, v jakém sekretují nebo podle typu obalů metacercárie, které jejich produkty tvoří.

Ačkoliv cystogenní žlázy tvoří vnější obaly budoucí metacerkárie, nemůžeme všechny cystogenní žlázy prohlásit výlučně za žlázy sekretující vně těla cercárie. U nezralých cercárií, ještě neuvolněných ze sporocysty/redie, totiž dochází k sekreci některých typů cystogenních granul do tegumentu. Teprve u zralých cercárií po opuštění mezihostitele dochází k uvolnění těchto granul a tvorbě prvního vnějšího obalu metacerkárie. (Dixon & Mercer 1967)

- Subtegumentální buňky

Subtegumentální buňky jsou žlázy umístěné (podobně jako cystogenní žlázy) pod vrstvami tělní svaloviny. Těla (cytony) subtegumentálních buněk vybíhají do tegumentu v podobě cytoplasmatických spojů (Hockley & McLaren 1973). U vyvíjejících se cercárií uvnitř sporocyst/redií se subtegumentální buňky podílejí na tvorbě tegumentu (Hockley 1972) a například u schistosom na přeměně povrchové membrány tegumentu po penetraci do obratlovčího hostitele (Hockley & McLaren 1973).

Obr. 3 – Typy vyústění sekretorických žláz cercárií: **A** – žlázy sekretující do tegumentu; **B** – žlázy sekretující vně těla cercárie; **T** – tegument; **LB** – lamina basalis; **S** – svalovina; **BT** – buněčné tělo; **CS** – cytoplasmatický spoj; **CV** – cytoplasmatický výběžek; **J** – jádro; **G** – sekreční granula.



3 SROVNÁNÍ ŽLÁZ U JEDNOTLIVÝCH SKUPIN CERKÁRIÍ

3.1 Cerkárie aktivně pronikající do definitivního hostitele

Do této skupiny patří zejména krevní motolice ryb (čeleď Sanguinicolidae) a ptáků či savců (čeleď Schistosomatidae) s životním cyklem vázaným na vodu. Jejich cercárie aktivně vyhledávají definitivního hostitele a penetrují do něj kůží.

Čeleď Schistosomatidae zahrnuje i významně patogenní druhy. Zástupci rodu *Schistosoma* jsou, mimo jiné, původci lidské schistosomózy, závažného onemocnění, které je sledované světovou zdravotnickou organizací (WHO [online]).

Méně závažným onemocnění člověka, způsobeným např. ptačími schistosomami rodu *Trichobilharzia*, je cercáriová dermatitida (swimmer's itch). Definitivními hostiteli těchto motolic jsou převážně vodní ptáci, cercárie však mohou náhodně penetrovat i lidskou kůží. Zde obvykle v důsledku imunitní odpovědi umírají, což se projevuje v podobě kožní vyrážky. (Horák a kol. 1998a)

Díky nezanedbatelnému významu pro člověka jsou dnes schistosomy velmi podrobně prostudovanou skupinou, následující kapitola proto podává souhrn dostupných informací o sekreторických žlázách právě u cercárií motolic čeledi Schistosomatidae.

3.1.1 Sekreторické žlázy cercárií motolic čeledi Schistosomatidae

3.1.1.1 Penetrační žlázy

Penetrační žlázy schistosom se skládají z pěti párů buněk umístěných v okolí břišní přísavky (acetabulum) – můžeme se setkat s termínem acetabulární žlázy (Stirewalt & Kruidenier 1961). Podle polohy vůči acetabulu je můžeme rozdělit na žlázy postacetabulární (3 páry) a preacetabulární (2 páry) (Stirewalt & Kruidenier 1961, Dorsey & Stirewalt 1971, Dorsey a kol. 2002), které mohou být označovány jako cirkumacetabulární (Horák a kol. 1998a, Ligasová a kol. 2011) (**obr. 4**). Rozmístění je patrně u všech schistosom totožné (Ligasová a kol. 2011). Acetabulární žlázy jsou tvořeny samostatnými buňkami

s výběžky, které se v přední části cercárie spojují po pěti do dvou samostatných svazků. Ty se dále dělí, takže obsah žláz nakonec z těla cercárie vychází čtyřmi otvory, umístěnými na vrcholu hlavové části cercárie. Ústí svazků žlázových výběžků jsou překryta tegumentálními záhyby, které zřejmě brání samovolnému uvolňování sekrečních granul. Každý svazek obsahuje výběžky jak žláz cirkumacetabulárních, tak i postacetabulárních. (Dorsey & Stirewalt 1971, Ligasová a kol. 2011)

Těmito vyústěními jsou uvolňována sekreční granula, která se liší velikostí podle typů acetabulárních žláz i podle druhu schistosomy (Ligasová a kol. 2011, Dorsey a kol. 2002). To může souviset s velikostí cercárií nebo s faktem, že různé druhy cercárií jsou přizpůsobené k pronikání přes odlišné typy kůže, např. kůže na noze kachny u *Trichobilharzia regenti* vs. lidská kůže u *Schistosoma mansoni* (Ligasová a kol. 2011). Někteří autoři popisují u cirkumacetabulárních žláz *S. mansoni* dva typy sekrečních granul (Davies 1983, Dorsey a kol. 2002). Sekreční granula penetračních žláz obsahují mimo jiné enzymy (proteázy) s histolytickými účinky, sloužící k narušení tkání hostitele (Stirewalt & Kruidenier 1961). Postacetabulární žlázy obsahují navíc mukopolysacharidové substance, které napomáhají adhezi k povrchu těla hostitele (Stirewalt & Kruidenier 1961, Stirewalt 1974).

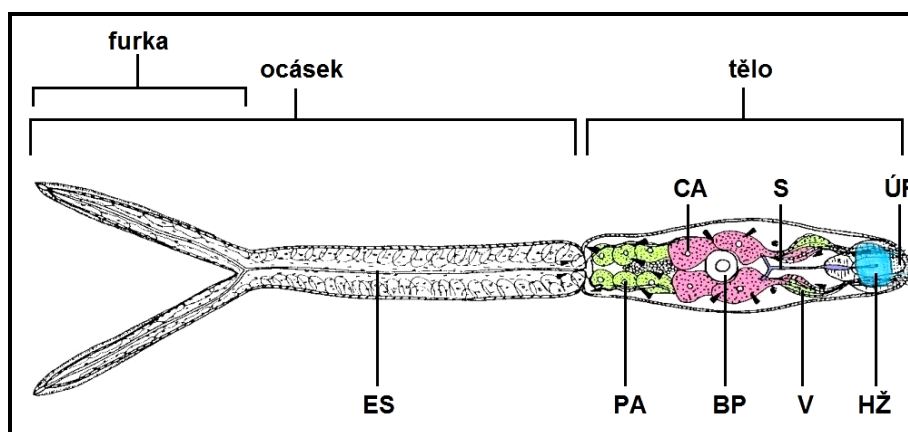
Dalším typem žláz vyskytujících se u cercárií schistosom je hlavová žláza, nacházející se v dorzální části hlavového orgánu. Tato žláza byla poprvé popsána v publikaci Cort 1919 u *S. japonicum*. Morris ve své studii z roku 1971 pozoroval hlavovou žlázu u *S. mansoni* a popsal ji jako „penetrační žlázu typu C“. Funkce hlavové žlázy je stále diskutována. Podle některých autorů slouží k opravám a modifikaci tegumentu poškozeného při penetraci do hostitele a patří mezi subtegumentální buňky (Dorsey 1976, Dorsey a kol. 2002), podle jiných souvisí přímo s penetrací (Morris 1971, Curwen & Wilson 2003). Hlavová žláza se skládá z buněčného těla, které se zužuje v několik výběžků ústících do tegumentu v blízkosti vyústění acetabulárních žláz (Morris 1971, Dorsey 1976). U volně plovoucích cercárií jsou výběžky ještě úzké a nenápadné, ale po penetraci ve schistosomulech jsou značně rozšířené a zřetelné. To je dáno tím, že sekreční granula procházejí při migraci do tegumentu právě těmito výběžky. To je také důvod, proč je buněčné tělo hlavové žlázy ve schistosomulu redukováno (Dorsey 1976). Na základě barvicích metod bylo zjištěno, že sekreční granula

hlavové žlázy *S. mansoni* patrně obsahují fosfolipidy, ale jejich význam není znám (Dorsey 1976).

Na základě stereometrických metod bylo u *T. regenti* zjištěno, že sekreторické žlázy (tj. penetrační a hlavová žláza, včetně výběžků) zabírají 1/3 těla cercárie (měřeno bez ocásku) (Ligasová a kol. 2011). U *S. mansoni* jsou uváděny téměř 2/3, tato hodnota je ale založena pouze na odhadu při pozorování ve světelném mikroskopu (Dorsey & Stirewalt 1971, Cousin a kol. 1981).

Acetabulární žlázy a hlavová žláza schistosom se vyskytují pouze u cercárií a krátce po jejich penetraci i u schistosomul (Cousin a kol 1981). Obsahy žláz se vylučují holokrinní sekrecí a žlázy po vyprázdnění zanikají (Dorsey & Stirewalt 1971, Morris 1971, Dorsey 1976). Kromě těchto typů žláz jsou u cercárií schistosom známy ještě únikové žlázy, které rovněž ústí na povrch těla v hlavové části cercárie. Popisované jsou zejména z cercárií ještě v době jejich vývoje uvnitř dceřiných sporocyst. Po uvolnění z mezihostitele jsou u cercárií patrné už jen výběžky těchto žláz, jejich buněčná těla zanikají spolu s vyloučením sekrečních produktů (Dorsey 1974). To je jeden z důvodů, proč se předpokládá, že tyto žlázy pravděpodobně slouží k narušení tkáně mezihostitele při uvolňování cercárie do vnějšího prostředí. Oproti např. penetračním žlázám jsou však únikové žlázy mnoha autory opomíjené, a tak jsou i informace o nich v relevantní literatuře pouze sporadické.

Obr. 4 – Penetrační žlázy *T. regenti* (Ligasová a kol. 2011): ÚP – ústní přísavka; BP – břišní přísavka; S – střevo; ES – exkreční systém; HŽ – hlavová žláza; CA – cirkumacetabulární žlázy; PA – postacetabulární žlázy; V – výběžky žláz.



3.1.1.2 Subtegumentální buňky

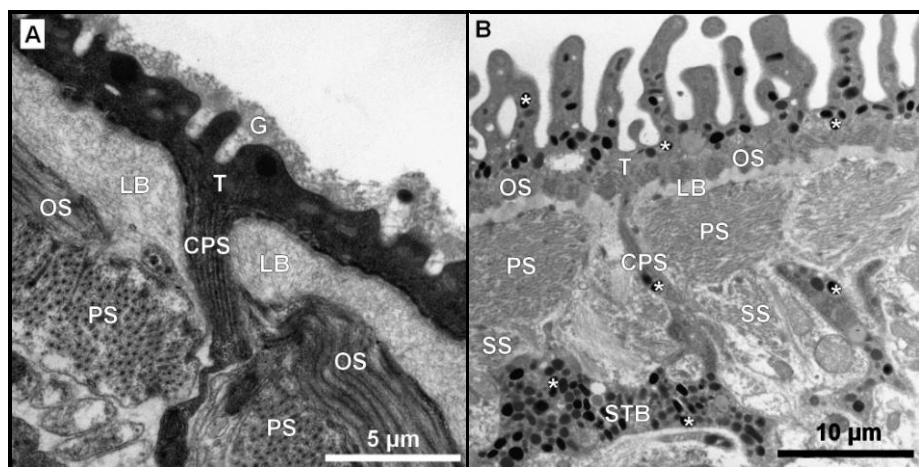
V ontogenetickém vývoji motolic se tegument (neodermis) objevuje poprvé při přeměně miracidia na následující larvální stadium - sporocystu. Jedná se o povrchové syncytium, které vzniká splynutím subtegumentálních buněk (STB). Jejich buněčná těla zůstávají spolu s jádry zanořena pod lamina basalis a vrstvami svaloviny, s vrstvou tegumentu jsou však propojeny cytoplasmatickými spoji. (**obr. 5**) (Meuleman a kol. 1978)

Subtegumentální buňky schistosom jsou spojovány zejména s transformací povrchu tegumentu během přeměny cercárie na schistosomulum (Hockley & McLaren 1973, Cousin a kol. 1981, Horák a kol. 1998b). Subtegumentální buňky se nacházejí pod tegumentem po celém těle cercárie, kromě ocásku. Dorsey a kolektiv ve své studii z roku 2002 rozdělil STB cercárie *S. mansoni* do 4 typů označených I-IV, podle lokalizace v těle cercárie a podle typu sekrečních granul obsažených v cytoplasmě buněk. Mezi STB zahrnul i hlavovou žlázu (viz 3.1.1.1).

Dorsey a kolektiv (Dorsey a kol. 2002) uvádí, že STB I jsou lokalizovány po celém těle cercárie pod vrstvou tělní svaloviny. Buňky typu II se nacházejí ve shluku na dorzální straně přední části těla cercárie. STB III a IV se v těle cercárie nacházejí jen ve velmi malém množství – buněk typu III pravděpodobně není více než 4 (Dorsey & Cousin 1986). STB III leží anteriorně od acetabula, STB IV anteriorně od cirkumacetabulárních žláz. Cytoplasmatické spoje STB I a IV jsou krátké a ústí v místě lokalizace buněk. Oproti tomu cytoplasmatické spoje vybíhající ze STB II jsou volně umístěné podél hlavového orgánu a ústí buď v místě lokalizace buněk, nebo do tegumentu hlavového orgánu. Nejsložitější strukturu mají cytoplasmatické spoje STB III, které se větví a jsou rozprostřeny po celém těle cercárie, včetně hlavového orgánu a zasahují i do ocásku. Autoři se domnívají, že by STB III mohly plnit senzorickou funkci. (Dorsey a kol. 2002)

Kromě STB jsou u schistosom popisovány i subezofageální buňky (SEB) lokalizované v blízkosti jícnu (ezofágus). Tegument kryje stejně jako povrch těla cercárie i invaginované části, jako je třeba jícen (Dorsey a kol. 2002). Protože u motolic rodu *Trichobilharzia* bylo zjištěno, že při transformaci cercárie na schistosomulum se mění i tegument jícnu (Chanová a kol 2009), vyvozujeme, že za jeho přeměnu by mohly být zodpovědné právě SEB.

Obr. 5 – Cytoplasmatické spoje vybíhající ze subtegumentálních buněk
(Bulantová, upraveno): **A** – cercárie; **B** – dospělec; **STB** – subtegumentální buňka;
CPS – cytoplasmatický spoj; **T** – tegument; **G** – glykokalyx; ⚡ – sekreční granula; **LB** – lamina
basalis; **OS** – okružní svalovina; **PS** – podélná svalovina; **SS** – šikmá svalovina.



3.2 Cerkárie tvořící metacerkárii v hostiteli

Do této skupiny patří motolice s životním cyklem vázaným na vodní (např. čeledi Echinostomatidae, Diplostomatidae) i suchozemské (např. čeleď Dicrocoeliidae) prostředí. Cerkárie těchto motolic většinou do meziphostitele penetrují přes povrch těla (např. zástupci čeledi Diplostomatidae, Paragonimidae, Plagiorchiidae, Strigeidae či některé druhy Echinostomatidae) např. motolice druhu *D. gasterostei* (Williams 1966), jiné se do něj dostávají jeho přirozenými tělními otvory (např. některé druhy čeledi Echinostomatidae) např. *E. revolutum* (Žďárská 1989).

V životním cyklu některých druhů čeledí Strigeidae a Diplostomatidae může být zahrnuto i stadium mezocerkárie, což je larva na pomezí cercárie a metacerkárie, která pomocí penetračních žláz migruje tělem meziphostitele a často umožňuje kumulaci parazita v paratenickém (transportním) hostiteli (Möhl a kol. 2009).

Společným znakem celé skupiny jsou cercárie, které v druhém meziphostiteli tvoří stadium metacerkárie a k infekci definitivního hostitele dochází po požití metacerkárie spolu s tkáněmi meziphostitele. Patří sem i motolice parazitující u člověka (zástupci čeledi Paragonimidae, Opisthorchiidae či Heterophyidae). Literatura, která by se dostatečně podrobně věnovala problematice žláзовých buněk u cercárií zmíněných čeledí však chybí. Proto se kapitola zabývá motolicemi čeledi Echinostomatidae (paraziti převážně u ptáků a savců) a Diplostomatidae (paraziti rybožravých ptáků). Důvod, proč jsou do kapitoly zařazeny obě čeledi, spočívá ve faktu, že motolice čeledi Echinostomatidae, které parazitují převážně u ptáků a savců, tvoří v druhém meziphostiteli encystované metacerkárie. Oproti tomu metacerkárie motolic čeledi Diplostomatidae, které cizopasí nejčastěji u rybožravých ptáků, mohou být i volné, neencystované – zvané diplostomulum.

3.2.1 Cerkárie tvořící encystovanou metacerkárii (čeleď Echinostomatidae)

Druhými meziphostiteli echinostomních motolic bývají nejčastěji bezobratlí živočichové, případně nižší obratlovci. Cerkárie do nich penetrují za pomoci produktů penetračních žláz a v jejich těle pomocí sekretů cystogenních žláz encystují do podoby metacerkárií, obklopených několikavrstevnými obaly.

3.2.1.1 Sekretorické žlázy cercárií čeledi Echinostomatidae

Žlázy, označované jako penetrační, byly autory dobře popsány u cercárie *Echinostoma revolutum* (Žďárská 1989, Kanev 1994). Jsou lokalizovány na ventrální straně v okolí ezofágu s výběžky ústíciemi na povrch na dorzální části ústní přísavky (Žďárská 1989). Shodnou strukturu mají i penetrační žlázy cercárií jiných druhů echinostom (např. *E. audyi*, *E. lindoense*, *E. trivolvis*) (Lie 1966, Kanev a kol. 1995). Cleveland a Kearn (1989) však nepřisuzují penetračním žlázám jako hlavní funkci penetraci, protože je pozorovali nevyprázdněné i po průniku cercárie do hostitele. Našincová (1986), která penetrační žlázy popsala u čerstvě excystované *E. revolutum*, navrhuje, že by mohly napomáhat excystaci, případně být využívány juvenilními či dospělými motolicemi. Cleveland a Kearn (1989) proto z důvodu neujasněné funkce „penetračních“ žláz navrhují termín „anteriorní žlázy“.

Po penetraci do hostitele encystují cercárie do podoby metacerkárií za pomoci produktů cystogenních buněk. Typy cystogenních buněk jsou u různých druhů cercárií popisovány v různých počtech; u *Echinoparyphium aconiatum* jsou to čtyři typy tělních cystogenních žláz označované podle polohy či funkce (ventrální, dorzální, hlavní cystogenní a subezofageální) (Žďárská 1968), u *Echinostoma revolutum* je jich uváděno pět (ke čtyřem typům shodným s předchozím druhem jsou tu navíc ještě žlázy laterální) (Žďárská & Našincová 1985). U obou druhů cercárií byl popsán také jeden typ sekretorických žláz v ocásku, tzv. kaudální žlázy (Žďárská 1969, Žďárská & Našincová 1985).

Sekretorické žlázy cercárií motolic čeledi Echinostomatidae jsou porovnávány mezi druhy *E. aconiatum* (Žďárská 1968) a *E. revolutum* (Žďárská & Našincová 1985).

- Ventrální žlázy obou výše zmíněných druhů jsou buňky obsahující homogenní cytoplasmu, které se nacházejí pod vrstvou tělní svaloviny na ventrální části těla cercárie a rozprostírají se po celé délce těla od hltanu směrem dozadu. V těle *E. revolutum* se jedná o nejmenší sekretorické buňky.
- Dorzální žlázy obsahují granulovanou cytoplasmu, nacházejí se na dorzální straně těla cercárie po celé jeho délce a zanořují se do mezibuněčného prostoru mezi hlavní cystogenní žlázy.
- Laterální žlázy *E. revolutum* jsou lokalizovány na ventrální části těla kolem ezofágu a okolo ústní a břišní přísavky. (Žďárská & Našincová 1985)
- Hlavními cystogenními žlázkami se nazývá pouze jeden typ buněk, přesto, že na tvorbě obalů metacercárie se podílejí i jiné žlázy. V publikacích (Žďárská 1968 a 1989, Žďárská & Našincová 1985) se setkáváme s označením „proper cystogenic“. Hlavní cystogenní žlázy *E. aconiatum* a *E. revolutum* se nacházejí uprostřed těla v oblasti mezi hltanem a zadním koncem těla (Žďárská 1968, Žďárská a Našincová 1985). V pozdější studii jsou stejné žlázy u *E. revolutum* popisovány na dorzální straně, pod tegumentem (Žďárská 1989). Do této oblasti žlázy, obsahující granulovanou cytoplasmu, také ústí (Žďárská 1968 a 1989, Žďárská & Našincová 1985).
- Subezofageální žlázy *E. aconiatum* a *E. revolutum* jsou lokalizovány na ventrální straně těla cercárie od hltanu po břišní přísavku, u *E. aconiatum* jsou uspořádány ve třech řadách a obsahují jemně granulovanou cytoplasmu. V pozdější publikaci jsou u *E. revolutum* popsány paraezofageální žlázy a subezofageální uvedeny nejsou (Žďárská 1989). Protože zde ale není uvedena poloha, nelze posoudit, zda se jedná o tytéž buňky, pouze s jiným označením, či nikoli. Paraezofageální žlázy, které vždy ústí do tegumentu (Žďárská 1989, Lie 1966) byly lokalizovány i u jiných druhů echinostom (*E. audyi*, *E. lindoense*) (Lie 1966) či jinými autory u *E. revolutum* (Kanev 1994). Funkce těchto žláz je ve všech výše zmíněných publikacích uvedena jako neznámá. Lie (1966) uvádí, že u některých druhů echinostomních cercárií (např. *E. malayanum*) nebyly nalezeny vůbec. Žďárská (1968) zpochybňuje jejich spoluúčast na penetraci, přestože se nacházejí na obdobném místě jako penetrační žlázy jiných druhů

cerkárií a navrhuje, že by mohly figurovat při tvorbě metacerkárie. Oproti tomu Cleveland a Kearns (1989) uvažují o možnosti, že by žlázy mohly sloužit k penetraci, protože je na základě barvení pozorovali po penetraci vyprázdněné.

- Kaudální žlázy byly lokalizovány po celé délce ocásku cercárií motolic *E. revolutum* a *E. aconiatum*. Tyto žlázy se podílejí na tvorbě tegumentu ocásku a svůj obsah uvolňují těsně před tím, než cercárie opustí plže. Sekrece žláz je holokrinního typu a proto krátce po vyprázdnění zanikají. (Žďárská 1969, Žďárská & Našincová 1985).

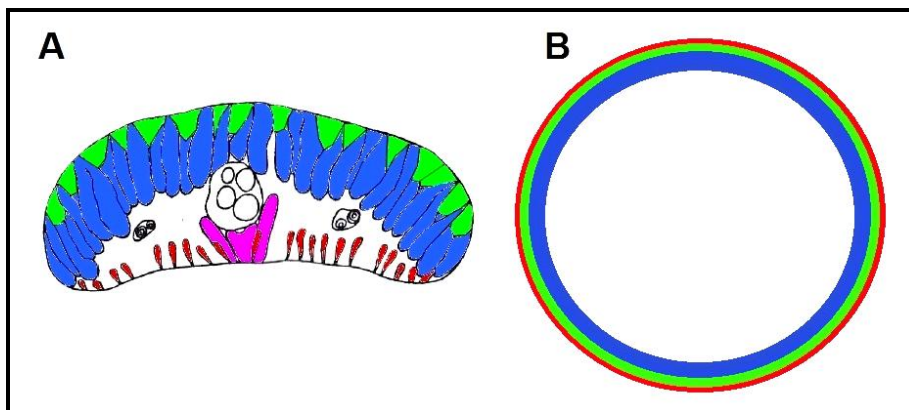
Postup uvolňování produktů cystogenních žláz má návaznost na vývoj cercárie a budoucí metacerkárie a začíná již v době, kdy je cercárie ještě v redii. U cercárie *E. revolutum* se ještě v redii uvolňují produkty ventrálních, laterálních a dorzálních žláz (Žďárská & Našincová 1985), u *E. aconiatum* jsou to pouze dva typy – ventrální a dorzální (Žďárská 1968). Všechny tyto žlázy zanikají ihned po vyprázdnění.

U cercárie *E. aconiatum* uvolňují svůj obsah nejprve ventrální žlázy na ventrální stranu těla. Odtud se pak vrstva sekretu rozšíří po celém těle cercárie i na dorzální stranu. Následně sekretují dorzální žlázy. Produkty těchto žláz jsou nejprve vyloučeny na dorzální stranu těla pod vrstvu tvořenou sekretem z ventrálních žláz. V této fázi je již cercárie připravena opustit redii i prvního meziphostitele. Po penetraci cercárie do druhého meziphostitele se pak vrstva tvořená produkty dorzálních žláz šíří i na ventrální část těla (Žďárská 1968). Žďárská a Našincová (1985) popisují průběh sekrece žláz u *E. revolutum* podobně s tím rozdílem, že jako druhé uvolňují své produkty laterální žlázy a sekrety dorzálních žláz se rozšíří po celém těle cercárie ještě před opuštěním redie. Pozdější studie Žďárské z roku 1989, však v rozporu s předchozími pracemi uvádí, že u druhu *E. revolutum* se nejprve vyprazdňují laterální, poté ventrální a nakonec dorzální žlázy.

U obou druhů cercárií se v druhém meziphostiteli vrstvy vzniklé sekrecí těchto tří typů žláz oddělují od těla cercárie a vzniká mezera, do které teprve vylučují své sekrety hlavní cystogenní žlázy a dochází k encystaci. Vnější vrstvy metacerkárie jsou tedy tvořeny vrstvami vzniklými předchozí sekrecí ještě v redii, vnitřní – a nejtlustší – vrstva je tvořena sekrety hlavních cystogenních žláz při

encystaci ve druhém meziphostiteli. (**obr. 6**) (Žďárská 1968, Žďárská & Našincová 1985, Žďárská 1989)

Obr. 6 – Sekreторické žlázy cercárie *E. aconiatum* a jim odpovídající vrstvy metacercárie (Žďárská 1968, upraveno): **A** – cercárie na příčném řezu; **B** – obaly metacercárie na příčném řezu; ■ – ventrální žlázy; ■ – dorzální žlázy; ■ – cystogenní žlázy; ■ – subezofageální žlázy.



3.2.2 Cercárie tvořící volnou metacercárii (čeleď Diplostomatidae)

Druhými meziphostiteli motolic této čeledi jsou nejčastěji ryby, ale mohou jimi být i vodní bezobratlí živočichové či obojživelníci. Cercárie do nich penetrují skrz jejich tělní povrch pomocí produktů penetračních žláz. V mozku nebo oční čočce meziphostitele se z nich vyvíjejí volné, neencystované metacercárie zvané diplostomulua (Rees 1955). Definitivní hostitel, nejčastěji rybožravý pták, se nakazí pozřením infikované kořisti.

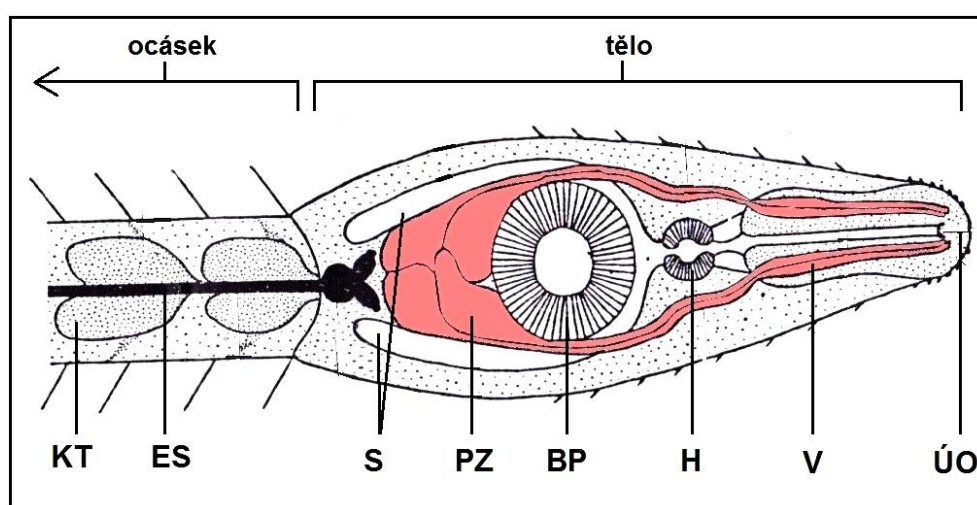
3.2.2.1 Sekreторické žlázy cercárií motolic čeledi Diplostomatidae

Dostupná literatura se u cercárií této čeledi zabývá pouze popisem penetračních žláz. O žlázách jiného typu se autoři nezmiňují, přesto, že jejich přítomnost není vyloučena.

Penetrační žlázy těchto cercárií se svým rozmístěním částečně shodují s rozvržením u čeledi Echinostomatidae. U cercárií *Diplostomum phoxini* (Rees 1957) a *Diplostomum gasterostei* (Williams 1966) byly lokalizovány čtyři buňky penetračních žláz ležících posteriorně za břišní přísavkou na ventrální části těla cercárie. Výběžky těchto žláz ústí na povrch těla po páru na každé straně ústní přísavky. (**obr. 7**)

Rees (1957) ve své práci uvažuje o možnosti, že penetrační žlázy by mohly napomáhat při migraci diplostomula *D.phoxini* mozkem ryby, protože je lokalizoval v těle diplostomula po penetraci do hostitele. Pearson ve své studii z roku 1961 také zaznamenal v rané fázi vývoje diplostomula *Neodiplostomum intermedium* přítomnost penetračních žláz. Oproti výše zmíněné studii byly ale už vyprázdněné a krátce nato zanikaly.

Obr. 7 – Penetrační žlázy cercárie *D. phoxini* (Rees 1957, upraveno): **ÚO** – ústní otvor; **V** – výběžky penetračních žláz; **H** – hltan; **BP** – břišní přísavka; **PZ** – penetrační žlázy; **S** – střevo; **ES** – exkreční systém; **KT** – kaudální tělíska.



3.3 Cerkárie encystující ve vnějším prostředí

Tyto cercárie přisedají po opuštění prvního meziphostitele na podklad a encystují do podoby metacerkárií, jejichž pozřením se nakazí definitivní hostitelé.

Následující kapitola se zabývá popisem sekreторických žláz cercárií dvou čeledí motolic, které parazitují v trávicí soustavě obratlovců. Čeleď Fasciolidae, jejíž zástupci parazitují u savců, byla vybrána s ohledem na její význam z hlediska humánní i veterinární medicíny.

Druhou popisovanou skupinou jsou motolice čeledi Notocotylidae, které parazitují převážně u vodních ptáků, výjimečně i u savců. Oproti zástupcům čeledi Fasciolidae je zde zásadní rozdíl v rané fázi vývoje vajíčka a ve způsobu infekce prvního meziphostitele (vajíčka zástupců čeledi Notocotylidae obsahují místo mirácií již mateřské sporocysty, které se líhnou až poté, co je vajíčko pozřeno prvním meziphostitelem). Další vývoj sporocyst a cercárií ale probíhá, až na drobné rozdíly, podobně jako u zástupců čeledi Fasciolidae.

3.3.1 Sekreторické žlázy cercárií čeledi Fasciolidae a Notocotylidae

V těle cercárií těchto čeledí se vyskytuje množství sekreторických buněk, které se podílejí na úpravě tegumentu u vyvíjejících se cercárií a především pak na tvorbě obalů budoucích metacerkárií.

U cercárií druhu *Fascioloides magna*, *Fasciola hepatica* i *Notocotylus attenuatus* byly lokalizovány čtyři základní typy cystogenních žlázových buněk ústících do tegumentu. U *F. magna* byly typy žlázových buněk označeny římským číslováním I, II, III, IV (Košťáková 2013), u *F. hepatica* podle charakteru obsahu jako buňky obsahující vytvrzovací proteiny (v anglickém originále „the tanned protein cells“), mukopolysacharidové buňky, mukoproteinové buňky a keratinové buňky (Dixon 1966). U *F. magna* byly oproti *F. hepatica* navíc popsány i další buňky s výběžky ústícími do tegumentu, nazývané jako subtegumentální buňky, které ale nebyly u cercárie blíže popisovány (Košťáková 2013).

Kromě základních čtyř typů žlázových buněk, označovaných u motolic *Notocotylus attenuatus* arabskými číslicemi 1, 2, 3 a 4 (Žďárská 1970, Southage 1971), lokalizovali autoři u cercárií tohoto druhu ještě další tři typy žláz. První dva typy (orální a posteriorně laterální žlázy) ústí na povrch těla cercárie

(Žďárská 1970, Southgate 1971). Třetí typ, kaudální žlázy, se nachází v ocásku cercárie a podílí se na tvorbě jeho tegumentu (viz 3.2.1.1) (Žďárská 1969).

V níže uvedeném přehledu jsou z hlediska lokalizace v těle cercárie porovnávány typy sekretorických žláz u *F. magna* (Košťáková 2013) a *F. hepatica* (Dixon 1966). U cercárie motolice druhu *N. attenuatus* (Žďárská 1970, Southgate 1971) jsou zmíněny pouze žlázy, které svou polohou a funkcí neodpovídají žádnému typu výše zmíněných druhů.

- Žlázové buňky typu I motolice *F. magna* se nacházejí téměř po celé ventrální části těla cercárie. Svojí polohou a obsahem odpovídají buňkám obsahujícím vytvrzovací proteiny popsány u *F. hepatica* ve starší literatuře.
- Cystogenní žlázy typu II *F. magna* jsou stejně jako mukopolysacharidové buňky u *F. hepatica* lokalizovány v několika podélných řadách na dorzální straně těla cercárie a další pak na ventrální straně v okolí břišní přísavky.
- Žlázy typu III *F. magna* odpovídají mukoproteinovým žlázám u *F. hepatica*. U obou druhů se nacházejí ve středu těla přímo u břišní přísavky a vedou až na úroveň hltanu, kde přiléhají k ventrálnímu povrchu těla.
- Buňky typu IV vyplňují u *F. magna*, stejně jako keratinové buňky u *F. hepatica*, téměř celou dorzální polovinu těla cercárie.
- Orální žlázy popisované u cercárií motolice *N. attenuatus*, jsou lokalizovány na ventrolaterální části ústní přísavky a na ventrální straně těla cercárie mezi ústní přísavkou a obloukem exkrementního systému.
- Posteriorně laterální žlázy (Southgate 1971) se nacházejí na zadním konci těla cercárie *N. attenuatus* při bázi ocásku. Tyto žlázy, které Žďárská (Žďárská 1970) v originále nazývá „the gland cells of the locomotory appendices“, leží dorzolaterálně, na každé straně ocásku jedna.

Uvolňování produktů sekretorických buněk do tegumentu začíná už u nezralých cercárií vyvíjejících se v redii (Dixon 1966, Southgate 1971, Košťáková 2013). Tyto sekrety jsou po opuštění mezipřítelenského plže a po přichycení cercárie k podkladu uvolněny z tegumentu a formují se z nich první obaly metacercárie. Metacercárie různých druhů motolic, encystujících ve vnějším prostředí, mají

odlišný počet obalových vrstev. Obal metacerkárie motolice *F. hepatica* má čtyři vrstvy na dorzální a laterální straně a dvě vrstvy na ventrální straně (Dixon 1965). Žďárská (1970) popisuje u metacerkárie *N. attenuatus* tři vrstvy na dorzální straně metacerkárie, dvě vrstvy na ventrální straně a na laterální straně dokonce pět vrstev.

Posloupnost uvolňování produktů žlázových buněk do tegumentu byla popsána u všech tří výše zmíněných druhů a u všech je, až na malé rozdíly, velice podobná.

Do tegumentu cercárie *F. magna*, vyvíjející se ještě v redii, jsou uvolňovány nejprve produkty subtegumentálních buněk, později i cystogenních žláz. Jako první se do tegumentu uvolňuje obsah cystogenních žláz typu III, po opuštění plže potom i obsahy žláz typu I (Košťáková 2013). U cercárie *F. hepatica* se ale produkty žláz odpovídající typu I u *F. magna*, tedy obsah buněk uváděných pod anglickým ekvivalentem „tanned protein cells“ uvolňuje do tegumentu už v rané fázi vývoje, když je cercárie ještě v redii. (Dixon 1966).

Tyto sekrety se po přisednutí cercárie motolice *F. magna* k podkladu uvolňují z tegumentu a tvoří vnější obal metacerkárie. Na povrchu dorzální části se nachází tenká vrstva tvořená sekrety buněk typu III, pod touto vrstvou tvoří produkty cystogenních buněk typu I nejsilnější vrstvu. Do prostoru pod tímto vnějším obalem se uvolňují sekrety buněk typu II a vzniká třetí vrstva, která kryje metacerkarii ze všech stran. Produkty žlázových buněk typu IV tvoří čtvrtou vrstvu metacerkárie, která se nachází nejbližší jejímu středu. (Košťáková 2013)

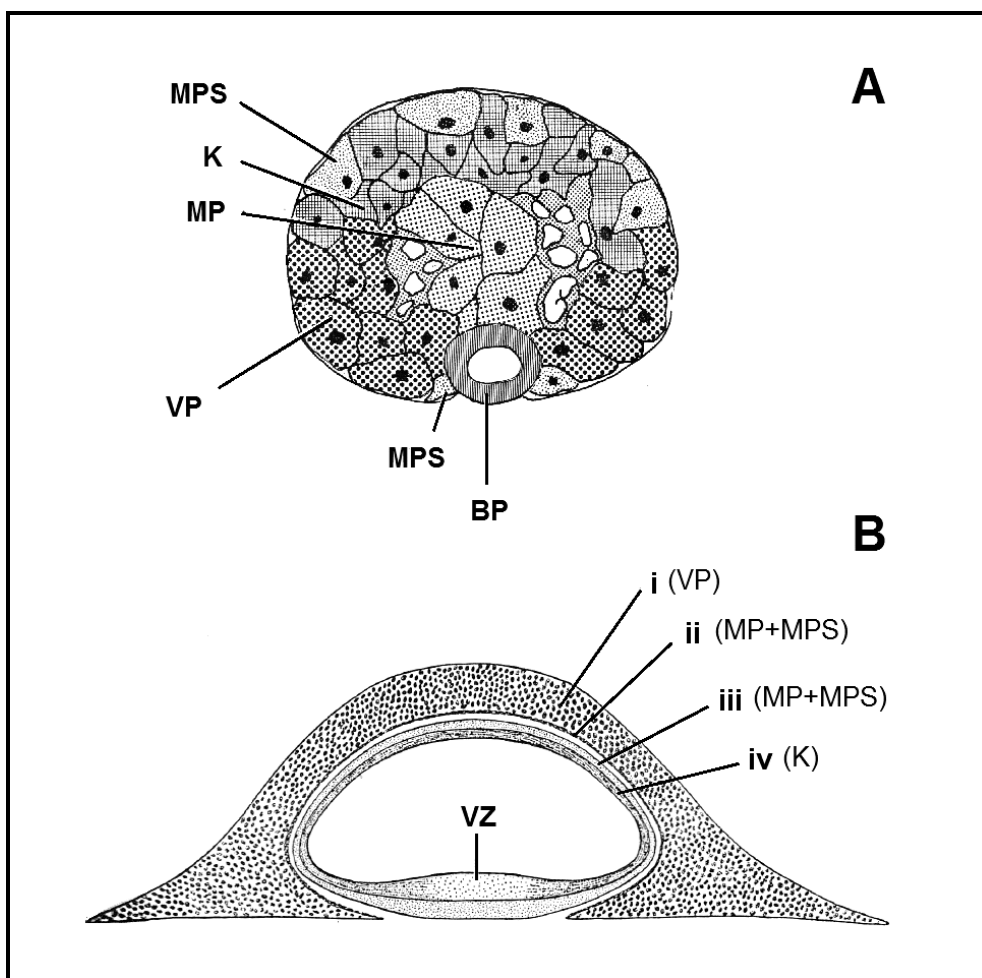
Oproti tomu u *F. hepatica* je vnější a zároveň nejsilnější vrstva metacerkárie tvořena produkty buněk obsahujících vytvrzovací proteiny (odpovídají buňkám typu I u *F. magna*), druhá a třetí vrstva jsou tvořeny směsí sekretů mukopolysacharidových (typ II u *F. magna*) a mukoproteinových (typ III u *F. magna*) buněk. Produkty keratinových buněk (typ IV u *F. magna*) formují stejně jako u motolice *F. magna*, čtvrtou, vnitřní vrstvu obalů metacerkárie. (**obr. 9**) (Dixon 1965, 1966, Dixon & Mercer 1967)

Podobně probíhá i formování metacerkariálních obalů u motolice *N. attenuatus*. Zatímco cercárie *F. hepatica* a *F. magna* se k podkladu přichycují pomocí přísavky (Dixon 1967, Košťáková 2013), u cercárií motolic druhu *N. attenuatus*, které břišní přísavku nemají, plní tuto funkci sekrety orálních

a posteriorně laterálních žláz, které se samotné encystace neúčastní (Žďárská 1970).

Obr. 8 – Sekreторické žlázy cercárie *F. hepatica* a jim odpovídající vrstvy metacerkárie:

A – cercárie na příčném řezu (Dixon 1966, upraveno); **B** – metacerkárie na příčném řezu (Dixon 1965, upraveno); **BP** – břišní přísavka; **VZ** – ventrální zátka; **MPS** – mukopolysacharidové buňky; **K** – keratinové buňky; **MP** – mukoproteinové buňky; **VP** – buňky obsahující vytvrzovací proteiny; **i** – produkty buněk obsahujících vytvrzovací proteiny; **ii** – produkty mukoproteinových a mukopolysacharidových buněk; **iii** – produkty mukoproteinových a mukopolysacharidových buněk; **iv** – produkty keratinových buněk.



3.4 Cerkárie neopouštějící redii/sporocystu – tvořící cercarieum

Motolice čeledi Leucochlorididae se od ostatních skupin motolic liší tím, že cercárie neopouštějí dceřinou sporocystu a tvoří metacerkárie přímo v ní (Pojmańska 1969, Galaktionov & Dobrovolskij 2003). Tomu je přizpůsobena i morfologie cercárií, které nemají ocásek a nazývají se cercarieum (**obr. 2E**).

Prvním, a zároveň jediným meziphostitelem je suchozemský plž, v jehož těle se vyvíjejí sporocysty. Tělo každé sporocysty je rozděleno do tří částí, kdy je centrální část sporocysty ležící v hepatopankreatu plže spojena protáhlou částí s pigmentovaným vakem. Ten se za vhodných podmínek nasouvá do tykadel plže kde „pulzuje“, a láká tak ptačího definitivního hostitele k sezobnutí pigmentovaného vaku naplněného metacerkáriemi i s částí tykadla meziphostitele (Pojmańska 1969, Galaktionov & Dobrovolskij 2003). Ve sporocystě jsou obsaženy metacerkárie i cercariea v různém stupni vývoje. Protože tegument metacerkárií je kryt pouze silnou vrstvou glykokalyxu, lze ve sporocystě jen velmi obtížně odlišit, co je ještě cercarieum a co už metacerkárie (Žďárská & Soboleva 1981).

3.4.1 Sekretorické žlázy cercárií čeledi Leucochlorididae

V těle cercária *Leucochloridium paradoxum* byl identifikován pouze jeden typ sekretorických žláz, které autorky popsaly i u metacerkárie téhož druhu (Žďárská & Soboleva 1981). Žlázy se nacházejí na ventrální straně okolo ústní přísavky a zasahují až k břišní přísavce. Přesto, že funkce těchto žláz není známá, autorky se přiklánějí k názoru, že slouží k mimotělnímu trávení ve sporocystě nebo mají svou funkci až v další fázi vývoje uvnitř definitivního hostitele.

Tegument metacerkárie je vyplněn sekrečními granuly, která pocházejí ze subtegumentálních buněk, jejichž buněčná těla se nacházejí pod vrstvou svaloviny a s tegumentem jsou spojena výběžky (Žďárská a kol. 1982, 1984). Autorky sice nepopsaly subtegumentální buňky u cercária, protože jsou však v těle metacerkárie již vyprázdněny, lze usuzovat, že se vyskytují i v předchozím stadiu.

4 DISKUZE A ZÁVĚR

Tato bakalářská práce shrnuje poznatky týkající se morfologické a funkční variability sekreторických žláz, které jsou cercáriemi využívány k ochraně před nepříznivými vnějšími vlivy, infikování dalšího hostitele a přeměně na další vývojové stádium a porovnává je v rámci skupin motolic s odlišnými vývojovými cykly.

Při studiu sekreторických žláz cercárií je často obtížné orientovat se v terminologii, která se v jednotlivých publikacích liší. Nejednotné bývá označení pro žlázy jako celek. Někteří autoři hovoří o žlázových buňkách nebo o žlázách („the gland cells“, „glands“, např. Žďárská 1970), jiní o parenchymatických buňkách („parenchymal cells“, např. Southgate 1971). Žlázy se shodnou lokalizací a funkcí bývají rozdílně označovány v pracích týkajících se různých druhů motolic stejné čeledi, např. označení dle charakteru obsahu u *F. hepatica* (Dixon 1966) vs. číslování u *F. magna* (Košťáková 2013). Často však narážíme na odlišnou terminologii i v rámci jednoho organismu, např. označení dle polohy (Žďárská 1970) vs. číslování (Southgate 1971) u *N. attenuatus*.

Navzdory odlišné terminologii používané různými autory, žlázy u cercárií s podobnou životní strategií se často shodují v lokalizaci i funkci. Cercárie tvořící metacercárie ve vnějším prostředí (čeledi Fasciolidae, Notocotylidae) a uvnitř meziphostitele (čeleď Echinostomatidae) využívají k encystaci podobné typy žláz (Žďárská 1968, Žďárská 1970). Stejně tak žlázy určené k penetraci do hostitele u tak rozdílných skupin motolic, jako jsou např. zástupci čeledí Schistosomatidae, Echinostomatidae či Diplostomatidae mají podobnou lokalizaci i vyústění.

V jiných případech je při srovnávání cercárií různých skupin motolic znát nevyrovnanost v pozornosti, která je jednotlivým typům sekreторických buněk věnována. Jde např. o žlázové buňky podílející se na tvorbě, modifikaci a opravách tegumentu. U dopodrobna prozkoumaných cercárií čeledi Schistosomatidae se tyto buňky nazývají subtegumentální. Podobné typy buněk se však zřejmě nacházejí napříč všemi skupinami motolic, ačkoli u některých se jejich studiem nikdo detailněji nezabýval a informace o nich jsou tedy jen minimální, nebo žádné.

Podobně jako subtegumentální buňky schistosom, i některé cystogenní žlázy motolic tvořících encystované metacerkárie (např. čeledi Echinostomatidae, Fasciolidae, Notocotylidae) vylučují své obsahy nejprve do tegumentu cercárie a teprve po zahájení encystace jsou uvolňovány ven; např. ventrální, laterální a dorzální žlázy u *E. revolutum* (Žďárská & Našincová 1985). Lze tedy předpokládat, že tyto typy cystogenních buněk, které nejprve sekretují do tegumentu, by mohly být specializovanými subtegumentálními buňkami a z toho důvodu se o subtegumentálních buňkách autoři u encystujících druhů příliš nezmiňují.

U mnoha typů žláz známe jejich lokalizaci, jejich přesná funkce však zůstává stále neznámá či sporná; např. u hlavové žlázy a subezofageálních buněk schistosom či subezofageálních/paraezofageálních buněk echinostom. Otevřená zůstává také diskuze nad možnými funkcemi takzvaných penetračních žláz cercárií čeledí Echinostomatidae a Diplostomatidae či sekretorických žláz leukochloridií.

Přesto, že některé typy sekretorických žláz si mohou být v rámci všech motolic z širšího úhlu pohledu podobné, při bližším zkoumání je v některých případech možné najít i drobné odlišnosti v počtu a velikosti žlázových buněk, v uspořádání sekretorických žláz nebo v množství jejich výběžků směrem k tegumentu. Takové rozdíly je pak možné využít třeba i pro druhovou diagnostiku při určování cercárií. (Lie 1966, Kanev a kol. 1995)

Studium žlázových buněk u cercárií různých druhů motolic nespočívá pouze v popisu morfologie jednotlivých typů žláz, ale navazuje na další odvětví výzkumu motolic, jako jsou taxonomie nebo funkční biologie. Sekretorické buňky bývají také objektem zájmu biochemických studií, které objasňují povahu látek produkovaných těmito buňkami a zároveň i způsob, jakým se tyto látky uplatňují přímo v těle motolice nebo v jejím vztahu k hostiteli.

Pro budoucí studium sekretorických žláz cercárií by bylo vhodné nejprve sjednotit používanou terminologii, která je v současné době značně chaotická. Aby se zabránilo vzniku nových nejasností při popisech žlázových buněk u cercárií dalších druhů motolic, je důležité mít ucelené znalosti týkající se dané problematiky nejen u konkrétního druhu, ale napříč všemi skupinami cercárií.

5 POUŽITÁ LITERATURA

Chanová M., Bulantová J., Máslo P., Horák P. (2009): *In vitro* cultivation of early schistosomula of nasal and visceral bird schistosomes (*Trichobilharzia* spp., Schistosomatidae). *Parasitology Research*. **104**: 1445-1452 pp.

Cleveland G., Kearn G.C. (1989): The function of the paraoesophageal glands in an echinostome (Digenean) cercaria (? *Cercaria spinifera* La Valette, 1855). *Journal of Helminthology*. **63**: 231-238 pp.

Cort W.W. (1919): The cercaria of the Japanese blood-fluke, *Schistosoma japonicum*, Katsurada. *University of California Publication of Zoology*. **18**: 485-507 pp.

Cousin C.E., Stirewalt M.A., Dorsey C.H. (1981): *Schistosoma mansoni*: ultrastructure of early transformation of skin- and shear-pressure-derived schistosomules. *Experimental Parasitology*. **51**: 341-365 pp.

Curwen R.S., Wilson R.A. (2003): Invasion of skin by schistosome cercariae: some neglected facts. *Trends in Parasitology*. **19**: 63-66 pp.

Crabtree J.E., Wilson R.A. (1985): *Schistosoma mansoni*: an ultrastructural examination of skin migration in the hamster cheek pouch. *Parasitology*. **91**: 111-120 pp.

Davies T.W. (1983): *Schistosoma mansoni*: the structure and elemental composition of pre-acetabular penetration gland cell secretion in pre-emergent cercariae. *Parasitology*. **87**: 55-60 pp.

Dixon K.E. (1965): The structure and histochemistry of the cyst wall of the metacercaria of *Fasciola hepatica* L. *Parasitology*. **55**: 215-226 pp.

Dixon K.E. (1966): A morphological and histochemical study of the cystogenic cells of the cercaria of *Fasciola hepatica* L. *Parasitology*. **56**: 287-297 pp.

Dixon K.E., Mercer E.H. (1967): The formation of the cyst wall of the metacercaria of *Fasciola hepatica*. *Zeitschrift für Zellforschung*. **77**: 345-360 pp.

Dorsey C.H. (1974): *Schistosoma mansoni*: ultrastructure of cercarial escape glands. *Experimental Parasitology*. **36**: 386-396 pp.

Dorsey C.H. (1976): *Schistosoma mansoni*: description of the head gland of cercariae and schistosomules at the ultrastructural level. *Experimental Parasitology*. **39**: 444-459 pp.

Dorsey C.H., Cousin C.E. (1986): *Schistosoma mansoni*: a new parenchymal cell in cercariae. *Experimental Parasitology*. **61**: 33-41 pp.

Dorsey C.H., Stirewalt M.A. (1971): *Schistosoma mansoni*: fine structure of cercarial acetabular glands. *Experimental Parasitology*. **30**: 199-214 pp.

- Dorsey C.H., Cousin C.E., Lewis F.A., Stirewalt M.A. (2002):** Ultrastructure of the *Schistosoma mansoni* cercaria. *Micron*. **33**: 279-323 pp.
- Galaktionov K.V., Dobrovolskij A.A. (2003):** Chapter 1: Organization of parthenogenetic and hermaphroditic generations of Trematodes in The Biology and Evolution of Trematodes. *Kluwer Academic Publishers*, Dordrecht. 1-215 pp.
- Graczyk T.K., Fried B. (1998):** Echinostomiasis: a common but forgotten food-borne disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **58**: 501-504 pp.
- Harrop R., Wilson R.A. (1993):** Protein synthesis and release by cultured schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*. **107**: 265-274 pp.
- Hockley D.J. (1972):** *Schistosoma mansoni*: the development of the cercarial tegument. *Parasitology*. **64**: 245-252 pp.
- Hockley D.J., McLaren D.J. (1973):** *Schistosoma mansoni*: changes in the outer membrane of the tegument during development from cercaria to adult worm. *International Journal for Parasitology*. **3**: 13-25 pp.
- Horák P., Kolářová L., Dvořák J. (1998a):** *Trichobilharzia regenti* n. sp. (Schistosomatidae, Bilharziellinae), a new nasal schistosome from Europe. *Parasite*. **5**: 349-357 pp.
- Horák P., Kovář L., Kolářová L., Nebesářová J. (1998b):** Cercaria – schistosomulum surface transformation of *Trichobilharzia szidati* and its putative immunological impact. *Parasitology*. **116**: 139-147 pp.
- Kanev I. (1994):** Lyfe-cycle, delimitation and redescription of *Echinostoma revolutum* (Froelich, 1802) (Trematoda: Echinostomatidae). *Systematic Parasitology*. **28**: 125-144 pp.
- Kanev I., Fried B., Dimitrov V., Radev V. (1995):** Redescription of *Echinostoma trivolvis* (Cort, 1914) (Trematoda: Echinostomatidae) with a discussion on its identity. *Systematic Parasitology*. **32**: 61-70 pp.
- Kolářová L., Horák P., Fajfrlík K. (1992):** Cercariae of *Trichobilharzia szidati* Neuhaus, 1952 (Trematoda: Schistosomatidae): The causative agent of cercarial dermatitis in Bohemia and Moravia. *Folia Parasitologica*. **39**: 399-400 pp.
- Košťáková M. (2013):** Morfologie vývojových stádií motolice *Fascioloides magna* a histopatologické změny u vybraných druhů definitivních hostitelů. Diplomová práce. *Univerzita Karlova v Praze, Praha*.
- Lie K.J. (1966):** Studies on *Echinostomatidae* (Trematoda) in Malay. XIV. Body gland cells in cercariae of *Echinostoma audyi* Lie and Umathevy, and *E. lindoense* Sanground and Bonne. *The Journal of Parasitology*. **52**: 1049-1051 pp.

Ligasová A., Bulantová J., Šebesta O., Kašný M., Koberna K., Mikeš L. (2011): Secretory Glands in cercaria of the neuropathogenic schistosome *Trichobilharzia regenti* – ultrastructural characterization, 3-D modelling, volume and pH estimations. *Parasites & Vectors*. **4**: 162 pp.

Meuleman E.A., Lyaruu D.M., Khan M.A., Holzmänn P.J., Sminia T. (1978): Ultrastructural changes in body wall of *Schistosoma mansoni* during transformation of miracidium into mother sporocyst in snail host *Biomphalaria pfeifferi*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*. **56**: 227-242 pp.

Morris G.P. (1971): The fine structure of the tegument and associated structures of the cercaria of *Schistosoma mansoni*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*. **36**: 15-31 pp.

Möhl K., Grosse K., Hamedy A., Wüste T., Kabelitz P., Lückner E. (2009): Biology of *Alaria* spp. and human exposition risk to *Alaria mesocercariae* – a review. *Parasitology Research*. **105**: 1-15 pp.

Murrills R.J., Reader T.A.J., Southgate V.R. (1985): Studies on the invasion of *Notocotylus attenuatus* (Notocotylidae: Digenea) into its snail host *Lymnaea peregra*: the contents of the fully embryonated egg. *Parasitology*. **91**: 397-405 pp.

Našincová V. (1986): Contribution to the distribution and the life history of *Echinostoma revolutum* (Trematoda) in Central Europe. *Věstník Československé Zoologické Společnosti*. **50**: 70-80 pp.

Našincová V. (1992): Vývojová stádia motolic v našich vodních plžích a vývojové cykly vybraných druhů čeledi Omphalometridae a Echinostomatidae. Kandidátská disertační práce. *Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice*. Obrazová příloha.

Pearson J.C. (1961): Observations on the morphology and life cycle of *Neodiplostomum intermedium* (Trematoda: Diplostomatidae). *Parasitology*. **51**: 133-172 pp.

Pojmańska T. (1969): *Leucochloridium perturbatum* sp. n. (Trematoda: Brachylaimidae), morphology, individual variability and life cycle. *Acta Parasitologica Polonica*. **16**: 153-175 pp.

Rees G. (1955): The adult and diplostomulum stage (*Diplostomulum phoxini* (Faust)) of *Diplostomum pelmatoides* Dubois and an experimental demonstration of part of the life cycle. *Parasitology*. **34**: 295-312 pp.

Rees G. (1957): *Cercaria diplostomi phoxini* (Faust), a furcocercaria which develops into *Diplostomulum phoxini* in the brain of the Minnow. *Parasitology*. **47**: 126-137 pp.

Smyth J.D., Halton D.W. (1983): Chapter 2: The adult Trematode – functional morphology in Smyth J.D., Halton D.W.: *The Physiology of Trematodes*, 2nd Edition. *Cambridge University Press*, New York. 7-41 pp.

Southgate V.R. (1971): Observations on the fine structure of the cercaria of *Notocotylus attenuatus* and formation of the cyst wall of the metacercaria. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*. **120**: 420-449 pp.

Stirewalt M.A. (1974): *Schistosoma mansoni*: cercaria to schistosomulum. *Advances in Parasitology*. **12**: 115-182 pp.

Stirewalt M.A., Kruidenier F.J. (1961): Activity of the acetabular secretory apparatus of cercariae of *Schistosoma mansoni* under experimental conditions. *Experimental Parasitology*. **11**: 191-211 pp.

Swales W.E. (1935): The life cycle of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875), the large liver fluke of ruminants, in Canada: with observations on the bionomics of the larval stages and the intermediate hosts, pathology of *Fascioloidiasis magna*, and control measures. *Canadian Journal of Research*. **12**: 177-215 pp.

Tarry D.W. (1969): *Dicrocoelium dendriticum*: The Life Cycle in Britain. *Journal of Helminthology*. **43**: 403-416 pp.

Thompson S.N., Kavaliers M. (1994): Physiological bases for parasite-induced alternations of host behaviour. *Parasitology*. **109**: 119-138 pp.

WHO (World Health Organization) [online]: Schistosomiasis, A major public health problem. Cited 28.4.2014. Link: <http://www.who.int/schistosomiasis/en>.

Williams M.O. (1966): Studies on the morphology and life-cycle of *Diplostomum* (*Diplostomum*) *gasterostei* (Strigeida: Trematoda). *Parasitology*. **56**: 693-706 pp.

Wilson R.A. (1971): Gland cells and secretions in the miracidium of *Fasciola hepatica*. *Parasitology*. **63**: 225-231 pp.

Žďárská Z. (1968): The histology and histochemistry of the cystogenic cells of the cercaria *Echinoparyphium aconiatum* Dietz, 1909. *Folia Parasitologica*. **15**: 213-232 pp.

Žďárská Z. (1969): The gland cells in the tails of cercariae. *Folia Parasitologica*. **16**: 111-120 pp.

Žďárská Z., Našincová V. (1985): Histological and histochemical studies on the cercaria and redia of *Echinostoma revolutum*. *Folia Parasitologica*. **32**: 341-347 pp.

Žďárská Z. (1989): Ultrastructural study of the glandular system and its participation in tegument formation in *Echinostoma revolutum* cercaria. *Folia Parasitologica*. **36**: 307-312 pp.

Žďárská Z. (1970): The gland cells of the cercaria of *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) and the cyst wall of its adoleskaria. *Folia Parasitologica*. **17**: 31-47 pp.

Žďárská Z., Soboleva T.N. (1981): Histochemistry of the sporocyst and metacercaria of *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1833. *Folia Parasitologica*. **28**: 221-226 pp.

Žďárská Z., Soboleva T.N., Osipovskaya L.L. (1982): Ultrastructure of the tegument and associated structures of *Leucochloridium paradoxum* sporocyst and metacercaria. *Folia Parasitologica*. **29**: 247-251 pp.

Žďárská Z., Soboleva T.N. (1984): Ultrastructure of the metacercaria and sporocyst sac of *Leucochloridium pertubratum* Pojmanská, 1969. *Folia Parasitologica*. **31**: 133-139 pp.